UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1949. — N° 120

# Les facteurs chimiques de la morphogenèse

## (Essai monographique d'Embryologie chimique)

●

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

**MENTION PHARMACIE**

présentée et soutenue publiquement en Avril 1949

par

**Lucien QUEUILLE**

PHARMACIEN

né le 17 Août 1909 à MAURIAÇ (Cantal)

Membres du Jury :

MM. BRUSTIER, Président.
BROUSSY, BLANC, BIMES } Assesseurs.
AUVERGNAT, Suppléant.

IMPRIMERIE WALLON
VICHY

1949

# FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

Nom du Candidat : **QUEUILLE.**

Prénom : **Lucien**

Date de la soutenance : .....

Numéro d'ordre : .....

(Ces deux mentions seront complétées par le service de la Bibliothèque)

**QUEUILLE (L.). — Les facteurs chimiques de la morphogenèse. (Essai monographique d'Embryologie chimique).**

**VICHY**, Imp. Wallon, In-8° r. p.

**(Thèse de Pharmacie, Toulouse 1949, n° 120).**

**QUEUILLE (L.). — Les facteurs chimiques de la morphogenèse. (Essai monographique d'Embryologie chimique).**

**VICHY**, Imp. Wallon, in-8° r. p.

**(Thèse de Pharmacie, Toulouse 1949, n° 120).**

**QUEUILLE (L.). — Les facteurs chimiques de la morphogenèse. (Essai monographique d'Embryologie chimique).**

**VICHY**, Imp. Wallon, In-8° r. p.

**(Thèse de Pharmacie, Toulouse 1949, n° 120).**

**QUEUILLE (L.). — Les facteurs chimiques de la morphogenèse. (Essai monographique d'Embryologie chimique).**

**VICHY**. Imp. Wallon, in-8° r. p.

**(Thèse de Pharmacie, Toulouse 1949, n° 120).**

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1949. — N° 120

# Les facteurs chimiques de la morphogenèse

## (Essai monographique d'Embryologie chimique)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

**MENTION PHARMACIE**

présentée et soutenue publiquement en Avril 1949

par

**Lucien QUEUILLE**

PHARMACIEN

né le 17 Août 1909 à MAURIAÇ (Cantal)

Membres du Jury :

MM. BRUSTIER, Président.

BROUSSY, BLANC, BIMES } Assesseurs.

AUVERGNAT, Suppléant.

IMPRIMERIE WALLON
VICHY

1949

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

# FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

## TABLEAU DU PERSONNEL

| | |
|---|---|
| DOYEN | MM. N... |
| ASSESSEUR | LEFEBVRE. |
| Doyens honoraires | BARDIER, GORSE. |

## PROFESSEURS HONORAIRES

o MM. RISPAL MM. MERIEL MM. RIBAUT.
MM. GARIPUY LAFFORGUE SERR.
CLERMONT ARGAUD

| | |
|---|---|
| Clinique de neurologie et de psychiatrie | MM. RISER. |
| Clinique médicale | TAPIE (J.), ROQUES. |
| Clinique obstétricale | GUILHEM. |
| Physiologie | SOULA. |
| Clinique chirurgicale du Cancer | DUCUING. |
| Physique biologique et médicale | BUGNARD. |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques | NANTA. |
| Chimie et Toxicologie | BRUSTIER. |
| Pathologie générale et médecine expérimentale | SENDRAIL. |
| Clinique chirurgicale et gynécologie | LEFEBVRE. |
| Anatomie | VALLOIS. LAZORTHES. |
| Histoire naturelle | DELAS. |
| Clinique médicale infantile et puériculture | SOREL. |
| Pharmacie | CAUJOLLE. |
| Pathologie interne et clinique des maladies de la tuberculose | MOREL. |
| Bactériologie, hygiène, médecine sociale | ANDRIEU. |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | VIRENQUE. |
| Clinique des maladies des voies urinaires | FABRE (P.). |
| Matière médicale | VINCENT. |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie | MERIEL (P.). |
| Anatomie pathologique | FABRE (J.). |
| Clinique O. R. L. et de chirurgie maxillo-faciale | CALVET. |
| Clinique ophtalmologique | CALMETTES. |
| Chimie biologique | VALDIGUIÉ. |
| Médecine légale | PLANQUES. |
| Histologie et Embryologie | BROUSSY. |
| Médecine sociale | BONHOURE. |

## PROFESSEURS SANS CHAIRE

| | |
|---|---|
| Physiologie | BAISSET. |
| Anatomie | COULOMA. |

## AGRÉGÉS EN EXERCICE

| | |
|---|---|
| Histologie | MM. BIMES, *ch. de f.* |
| Anatomie | POULHES, *ch. de f.* |
| Médecine | GADRAT, DARNAUD. GÉRAUD, DARDENNE. LAPORTE. |
| Chirurgie | RIEUNAU, DIEULAFÉ. DAMBRIN (P.). GRIMOUD (M.). |
| Ophtalmologie | DEODATI. |
| Physique médicale | MARQUES. |
| Pharmacie | COUTURIER. |
| Chimie générale pharmaceutique | BLANC. |
| Histoire naturelle et pharmaceutique | Mme DULUCQ-MATHOU. |
| Odonto-Stomatalogie | CADENAT. |

## COURS COMPLÉMENTAIRES

| | |
|---|---|
| Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes | MM. GUILHEM. |
| Cours d'anatomie physiologique et pathologie élémentaire aux élèves sages-femmes | GUILHEM. |
| Chimie biologique | VALDIGUIÉ (P.). |
| Chimie pathologique | VALDIGUIÉ (P.). |
| Chimie minérale | BLANC. |
| Physique pharmaceutique | AUVERGNAT. |
| Dermatologie et Syphiligraphie | BAZEX. |
| Législation pharmaceutique | BOUISSET. |
| Clinique de la Tuberculose | MOREL, DAMBRIN P. |
| Parasitologie | LASSERRE. |
| Botanique et Cryptogamie | Mme DULUCQ-MATHOU. |
| Chimie analytique | MM. BLANC. |
| Anatomie médico-chirurgicale | THOMAS. |
| Pharmacodynamie | BAÏSSET. |
| Bactériologie et Hygiène | LAPORTE. |
| Urologie | LHEZ. |
| Ophtalmologie | DEODATI. |
| Neuro-chirurgie | LAZORTHES. |
| Clinique O. R. L. | CLAUX. |
| Secrétaire de la Faculté | ARGILAS. |

*La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.*

(Délibération en date du 12 mai 1891.)

A MA FEMME et à ma Fille Marie-Andrée

*Bien faible témoignage de mon affection et de ma tendresse.*

A ma Grand' Mère,
A mes Parents,
A ma Tante Mlle H. CLAUZET,

*Dont la grande bonté et les soins ont si bien entouré mes jeunes années.*
*Je leur offre ce modeste témoignage de ma gratitude et de ma filiale affection.*

A mon Frère,
A mes Beaux-Parents,

*Gage d'affection et de reconnaissance.*

A ma Belle-Sœur.

A ma Famille,

et en particulier à mon Oncle,
le Docteur Henri QUEUILLE,
Président du Conseil des Ministres
de la République Française

*Qui est et sera toujours pour moi un exemple inégalé. Qu'il reçoive ici le juste hommage de mon affection.*

Aux Miens, à mes Amis.

A notre Maître et Président du Jury de Thèse,

Monsieur le Professeur Vincent BRUSTIER
Assesseur du Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie de Toulouse,
Inspecteur Général des Pharmacies,
Officier de la Légion d'Honneur.

*« Faible témoignage de notre très respectueuse, très déférente et très amicale gratitude. »*

A notre Ami,

Monsieur le Professeur Agrégé Paul BLANC
Pharmacien en Chef
du Centre Hospitalier Régional de Toulouse.

*« Qui est pour nous un ami très cher et un conseiller écouté, en témoignage de notre affectueux dévouement. »*

A notre Jury de Thèse,

A Monsieur le Professeur Jean BROUSSY
Professeur d'Histologie et d'Embryologie
à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie
de Toulouse.
A Messieurs les Docteurs BIMES et AUVERGNAT
Chargés des fonctions d'Agrégé d'Histologie et de Physique
à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie
de Toulouse.

*« En toute sincère, amicale et respectueuse gratitude. »*

A nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
et plus particulièrement à :

Monsieur le Doyen Auguste SARTORY
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris.

et à

Monsieur le Professeur René SARTORY
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

*Tous deux ont été pour nous au cours de nos études à la fois des Maîtres respectés et des amis très bienveillants, il nous est très agréable, ici, de leur témoigner l'expression de notre vive, affectueuse et très déférente gratitude.*

A nos Maîtres de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie
de Clermont-Ferrand.

# INTRODUCTION

*L'Embryologie comme toute science a évolué. Cette évolution est concomittante des progrès immenses faits ces dernières années dans les techniques appliquées aux Sciences biologiques.*

*Descriptive à son origine, l'Embryologie se contentait d'étudier, de définir et d'intégrer dans l'espace des formes. Elle était donc statique et purement morphologique, elle utilisait pour ses fins les ressources limitées de la technique histologique.*

*L'orientation récente et l'adaptation de la micro-chimie et de la micro-physique aux techniques biologiques a donné à l'Embryologie un essor nouveau fécond en résultats. De statique elle est devenue dynamique et s'est alors intéressée aux « causes » profondes régissant le développement embryonnaire. L'Embryologie causale était née.*

*Cette Embryologie causale qui s'intéressa tout d'abord aux « causes mécaniques » d'ordre naturel ou expérimental susceptibles d'expliquer la cinétique (cinématique) des premiers stades du développement embryonnaire, s'est plus récemment penchée sur les problèmes d'ordre micro, histo et cytochimiques qui paraissent en être à l'origine. C'est ainsi que dernière née est apparue l'Embryologie chimique.*

*Embryologie descriptive, expérimentale et chimique forment un ensemble, un tout harmonieux, témoignage indiscutable de l'évolution progressive de l'esprit scientifique humain dans ce qu'il a de plus noble et de plus désintéressé.*

*C'est des moyens techniques, des buts et de l'avenir de cette science nouvelle que nous avons essayé, dans ce modeste mais utile travail, de faire une brève mais complète revue générale.*

*Je suis particulièrement heureux, ici, d'exprimer toute ma sincère et déférente gratitude à MM. les Professeurs* V. BRUSTIER *et* J. BROUSSY *de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse qui ont bien voulu m'accueillir avec bienveillance dans leurs Laboratoires. Grâce à leurs conseils amicaux, j'ai pu m'intéresser à ce travail et le mener à terme.*

## TECHNIQUES DE L'EMBRYOLOGIE CHIMIQUE

Elles peuvent être quantitatives ou qualitatives et, dans ce dernier cas, être spécifiques ou non spécifiques (réactions « de groupe ») et porter sur une cellule ou partie de cellule (techniques cytochimiques) ou sur un ensemble de cellules (techniques histochimiques).

A) *TECHNIQUES CYTOCHIMIQUES.* — Elles réclament deux conditions principales (LISON) :

a) spécificité aussi étroite que possible;

b) constance de la localisation de la substance étudiée au cours des manipulations. Cette condition est rarement réalisée de façon satisfaisante du fait des perturbations apportées :

1°) par les procédés de préparation qui peuvent conduire à des artefacts, des remaniements topographiques, des variations de composition, etc...

2°) par les phénomènes de diffusion, dissolution, etc...

a) *Réaction des protéines.*

*Réaction xanthroprotéique* (réaction de MILLON).

*Réaction à la ninhydrine.*

*Réaction de* ROMIEU (coloration rouge ou violette par action de l'acide ortho-phosphorique concentré et chauffé modérément).

*Réaction de* VOSS (coloration rouge violacée donnée par les groupes $NH^2$ en présence de l'o-diacetyl-benzol).

*Réaction de l'encre de* DERRIEN *et* TURCHINI.

b) *Réaction des lipides.*

Colorations par Soudan III, Scharlach, Noir Soudane B, Rouge soudane B, Bleu Z.B.L., etc...

*Réaction de* LIEBERMANN.

*Réaction à la digitonine.* Pour les phosphatides et stérols.

*Réaction plasmqle de* FEULGEN *et* VOIT donnée par le plasmalogène (acétalphosphatides de FEULGEN et BERSIN ou le glycérol est combiné à un aldéhyde d'acide gras. On obtient après fixation au sublimé, une réaction aldéhydique avec la fuchsine décolorée par $SO^2$.

*Réaction au bleu iris* (SPECK) intensification du spectre de fluorescence de ce colorant vital par les phosphatides.

c) *Réactions du glycogène.*

Réaction de BEST.

Réaction au lugol.

Réaction de BAUER : recoloration après oxydation par l'acide chromique, de la fuchsine décolorée par $SO^2$. Réaction positive avec d'autres polysaccharides la cellulose, la tunicine, les glycoprotéides (mucus par ex).

d) *Réactions des groupes sulfhydriles.*

Valables pour le glutathion et les protéines contenant de la cystéine; pour ces dernières se méfier de la dénaturation, par les manipulations par ex, qui augmente la teneur en groupes SH.

Réaction au nitroprussiate ammoniacal (coloration rouge) notamment par la réaction de GIROUD et BULLIARD.

Réaction de CHÈVREMONT et FRÉDÉRIC (réduction du ferricyanure ferrique en Bleu de Prusse).

e) *Réactions de l'acide ascorbique.*

Réaction de GIROUD et LEBLOND (réduction de $NO^3$ Ag acide à l'obscurité).

f) *Réactions des ferments respiratoires.* Réaction du Nadi.

Réaction du Nadi : transformation en bleu d'indophénol du mélange d'exnaphtol et de dimethylparaphenylenediamine. Sert à la détection de l'indophenoloxydase (= cytochromoxydase = ferment respiratoire de Warburg).

Réaction à la benzidine : oxydation de la benzidine en un composé bleu en présence d'$H^2O^2$. Utilisée pour la détection de la peroxydase (benzidine peroxydase) elle s'applique à toutes les peroxydases (P. vraie, hémoglobine, cytochromes; hemines d'une façon générale).

g) *Réactions des acides nucléiques.*

Acide thymonucléique : Réaction de FEULGEN et ROSSENBECK (après hydrolyse ménagée de l'acide il y a recoloration de la fuchsine décolorée par $SO^2$). Cet acide est détruit par la desribonuclease de FISCHER (négativation de la réaction précédente). L'acide thymonucléique présente une affinité plus forte pour le vert de méthyle que pour la pyronine (c'est l'inverse pour l'acide ribonucléique).

Acide ribonucléique : Réaction au bleu de toluidine ou par le réactif de UNNA (vert de méthyle-pyronine). Il est détruit par la desribonuclease.

h) *Technique de* CASPERSSON (spectroabsorptiométrie).

Utilisable pour le dosage des acides nucléiques; l'étude quantitative des réactions cytochimiques colorées, des teneurs en hémoglobine, en cytochrome, phosphore, etc...

Combinée à la technique d'ALTMANN-GERSH (coupes à la congélation, déshydratation au froid dans un vide poussé, enrobage dans la paraffine). La technique de CASPERSSON est l'instrument idéal pour l'étude cytochimique de la cellule.

i) *Mesure du pH et du* $rH^2$.

La mesure du pH s'effectue par microélectrodes (BUYTENDJYK, WOERDEMANN, DORFMANN) ; celle du $rH^2$ par les techniques de FISCHER et HARTWIG.

## B) *TECHNIQUES HISTOCHIMIQUES.*

Microtimétrie (LINDERSTROM-LANG et HOLTER). Elle est 50 fois plus précise que les microméthodes ordinaires. Sensibilité de l'ordre de 0,01 $\gamma$ dans la titration de 3 $\gamma$ d'ammoniaque par ex; de 0,005 $\gamma$ pour les quantités d'ammoniaque inférieures à 0,3 $\gamma$.

Microdilatométrie (LINDERSTROM-LANG et LANZ). Sensibilité 50 fois supérieure à celle de la microtimétrie.

Microrespirométrie (GÉRARD et HARTLINE). Permet d'atteindre des sensibilités de l'ordre de 0,0002 $cm^3$ d'oxygène par exemple.

Ludion de LINDERSTROM-LANG et HOLTER. Permet la mesure de la consommation d'oxygène de 0,1 à 0,001 $mm^3$/heure.

Microludion de ZEUTHON. Permet d'atteindre des mesures de 0,00002 $mm^3$.

Mesure des « poids réduits » (LINDERSTROM-LANG). Permet des déterminations de l'ordre de $5 \times 10^{-7}$ grs.

Modification de la respiration. — *Inhibiteurs* - Cyanure, oxyde de carbone, hydrogène sulfuré, uréthane (ce dernier agit lorsque les ferments oxydants sont liés à des particules ou des substrats sur lesquels il se fixe).

*Activateurs* - Dinitrophénol, bleu de méthylène, pyocyanine.

CHAPITRE I

## BIOCHIMIE DE LA REPRODUCTION

Commencée pour la reproduction sexuée elle reste à peu près complètement à faire pour la reproduction asexuée.

Il est commode de distinguer avec HARTMANN deux mécanismes de détermination du sexe :

a) La détermination génotypique qui dépend des chromosomes ;

b) La détermination phénotypique qui dépend des circonstances extérieures (détermination « épistatique » ou par les facteurs mesologiques ou encore par le milieu, ces divers termes étant employés ici comme synonymes).

Selon que le sexe est fixé antérieurement à la fécondation, lors de celle-ci ou postérieurement on parle de détermination progamique, syngamique ou épigamique.

La première n'a pas été établie scientifiquement et la dernière semble compatible avec la seconde, seule actuellement bien connue, et dans ce cas dépendante d'influences mesologiques interférant avec les processus de la détermination génotypique-syngamique. Bien que la démonstration n'ait pas été encore fournie de la réduction de la détermination syngamique aux seuls facteurs chromosomiaux le rôle de ceux-ci semble primordial et il est loisible de les considérer comme seuls en cause.

Le problème du déterminisme sexuel n'est intelligible que si on garde présente à l'esprit la notion de base de la bipotentialité sexuelle conformément à laquelle chaque organisme possède, à l'état potentiel, les deux sexes dont l'un, à l'état actuel, déterminera l'autre.

Les phénomènes d'intersexualité, gynandromorphisme,

etc... s'interprètent facilement sur cette base, moyennant certaines hypothèses complémentaires.

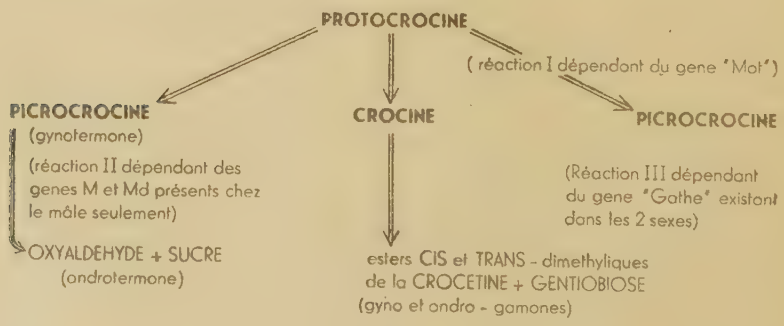
Il semble que, pour tous les organismes présentant une reproduction sexuée, la détermination du sexe soit sous la dépendance d'un mécanisme biochimique. Plus précisément il semble qu'elle dépend des rapports quantitatifs existant entre certaines substances dont la production serait conditionnée par les genes, ces derniers étant probablement de nature enzymatique (GOLDSCHMITT).

*Détermination biochimique du sexe.* — 1°) Exemple de *Chlamydomonas eugametes* (Travaux de MOEWUS et KUHN). Chez cet organisme le sexe est déterminé par des substances chimiques qui ont été identifiées (andro et gynotermones) et qui agissent à des concentrations extrêmement faibles (de l'ordre d'une molécule par cellule).

La copulation des gametes est assurée par l'élimination, en quantités définies, de gamones (gyno et androgamones) qui agissent, comme les termones, à l'état de traces. C'est le rapport entre ces gamones (esters cis et trans-diméthyliques de la crocétine) qui est responsable de la sexualité relative décrite par HARTMANN chez *Ectocarpus silicosus*; il est probable que les phénomènes de sexualité pluripolaire observés chez certains Végétaux inférieurs relèvent d'un mécanisme analogue.

Il existe dans les cellules de *Chlamydomonas* des ferments catalysant des réactions contrôlées par les genes et il y a de sérieuses raisons de penser que ces ferments sont identiques aux genes en cause.

On peut résumer grossièrement ces vues par le schéma suivant :

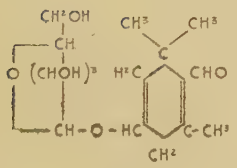


Le gene M assure l'élimination en proportions convenables des esters cis et trans. Le gene $M^d$ induit les cellules à élaborer l'androtermone. Le gene « Mot » (de motus, mouvement) règle la formation de la crocine et des termones aux dépens d'un percurseur unique (réaction I : protocrocine = 2 picrocines + crocine).

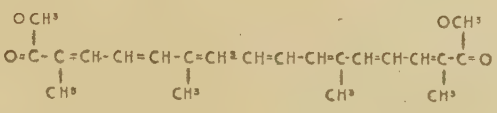
2°) *Exemple de Bonellia viridis.* — Dans cette espèce la masculinisation dépend, physiologiquement, d'une substance élaborée par la trompe de la femelle (BALTZER, NOVINSKI). Expérimentalement d'autres agents peuvent agir de la même façon sur les larves nageantes encore indifférenciées (HERBST). BALTZER suggère que cette évolution pourrait dépendre de variations respiratoires; il faudrait étudier à ce propos l'action d'inhibiteurs (cyanure, CO, $H^2S$) et d'activateurs (pyocyanine, bleu de méthylène, dinitrophénol).

3°) *Exemple des Vertébrés.* — Le virage des sexes y est également défini par des substances chimiques précises (lipides, polycycliques du groupe des stérols). Il faudrait toutefois pousser plus loin l'analyse pour voir si ces substances sont bien les facteurs primaires en cause, autrement dit déterminer la nature des substances chimiques actives présentes dans le jeune embryon et la jeune gonade.

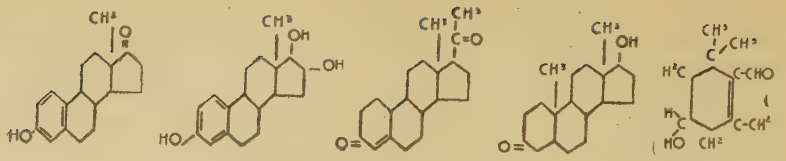
Les trois principales substances sexuelles actives présentes chez les Vertébrés supérieurs sont l'oestrone (folliculine « stricto sensu ») la progestérone (improprement appelée « lutéine ») et la testostérone.



Picrocronine (gynotermone)



Esters ics et trans-dimethyliques de la crocetine (gyno et andro-gamones)



oestrome oestriol progesterone testosterone androtermone

Contrairement à ce qui a été soutenu (GIDDES et THOMSON 1889, RIDDLE, JOYET-LAVERGNE 1931) le métabolisme n'est pas un agent morphogénétique important et ne joue qu'un rôle accessoire comparé à celui qui est dévolu à certaines substances spécifiques.

A noter que les genes sont probablement identifiables aux « enzymes primaires » qui catalysent la production des substances déterminant le sexe.

Dans l'une et l'autre hypothèse d'ailleurs, des influences externes (pH, température, etc...) peuvent modifier le déroulement des processus chimiques déterminant la sexualité et la détermination épistatique (ou phénotypique au sens d'HARTMANN) s'explique sans doute de la sorte.

CHAPITRE II

## BIOCHIMIE DE LA GAMETOGENESE

*(Etude chez les Amphibiens)*

A) OOGÉNÈSE. — *Données cytochimiques qualitatives.*

Les gouttelettes lipidiques semblent apparaître les premières, ensuite le glycogène, ce dernier est plus abondant autour du noyau (anneau de glycogène perinucléaire). La membrane nucléaire birefringente est formée de lamelles protéiques accolées (SCHMIDT).

Ensuite se forme le vitellus protéique d'origine discutée : chrondriome (KONOPACKI), vacuome (H. HIBBARD).

Lors de la formation du vitellus, dont la zone d'extension s'accroît on note une diminution progressive des territoires contenant des protéines sulfhydrilées (J. BRACHET, réaction au nitroprussiate) la localisation dernière de ces protéines semblant coïncider avec celle de l'hyaloplasme. Ces protéines sont abondantes dans la vésicule germinative, de façon générale semble-t-il (Amphibiens, Pholade, Astérie, Oursin, etc...).

Les synthèses dont l'oocyte est le siège semblent se faire aux dépens de constituants du sang par l'intermédiaire des cellules folliculeuses; le « noyau vitellin », riche en mitochrondries, paraît y jouer un rôle, au début du moins.

Contrairement à une opinion longtemps classique les acides nucléiques (ribonucléique ou thymonucléique et ribonucléique ou zymonucléique) sont simultanément présents dans toute cellule animale ou végétale. Ils sont combinés (de façon encore mal connue) à des protéines basiques (protamines, histones) riches en acides diamines (arginine, histidine, lysine).

Il faut noter à leur sujet les points suivants :

a) seuls les chromosomes renferment de l'acide thymonucléique (révélable par la réaction de FEULGEN, recoloration de la fuchsine décolorée par $SO^2$), le cytoplasme et le vitellus des oocytes en étant dépourvus, comme d'ailleurs le cytoplasme de toute cellule normale. La réaction de FEULGEN est négative pour le suc nucléaire et le nucléole.

b) l'acide thymonucléaire est un constituant constant des chromosomes (BAUER, J. BRACHET, PAINTER, TAYLOR) même pendant le grand accroissement (il ne disparaît donc jamais comme avait pu le penser KOLTZOFF) et les chromomères constitués par cet acide semblent bien correspondre aux genes.

c) l'acide ribonucléique est présent dans cytoplasme des oocytes (où sa teneur diminue pendant le développement) et dans les nucléoles. Il se colore en rouge par la pyronine (par exemple avec le mélange de UNNA au vert de méthyle-pyronine) et peut être hydrolysé par une diastase spécifique (ribonucléase).

d) la teneur en acide ribonucléique du cytoplasme et des nucléoles est sous la dépendance de la teneur du noyau en acide thymonucléique et de sa composition chromosomiale (CASPERSSON et SCHULTZ).

e) certains dérivés de l'acide ribonucléique jouent un rôle fondamental dans les oxydations cellulaires et la glycolyse en fonctionnant comme codeshydrases et cophosphorylases : ces dérivés sont des mono ou di-nucléotides à base d'adonine (acide adénylique du muscle, acide adénosinetriphosphorique, codeshydrases I, II et III).

*Données histochimiques (quantitatives).*

La respiration est plus active au stade d'oocyte II, lors de la vitellogénèse. Elle diminue ensuite, sans doute à cause de l'accumulation de vitellus, matériel inerte au point de vue respiratoire et enzymatique quoiqu'il puisse servir de substrat à des phosphatylases.

Le noyau ne semble être ni un lieu de synthèse des protéines, ni un réservoir d'enzymes (il ne renferme qu'une

faible quantité des hydrolases présentes dans l'œuf) ni le centre des oxydations de celui-ci.

Par contre il semble bien être le lieu de synthèse de substances élaborées par les genes et conditionnant la morphogénèse.

Les ferments oxydants (desmolases) semblent liés à des granules cytoplasmiques (déplaçables par centrifugation rapide) et situés pour les 2/3 dans l'hyaloplasme (E.B. HARVEY, SHAPIRE, BALLENTINE).

Les hydrolases ne s'accumulent pas dans le noyau mais existent à l'état diffus dans le cytoplasme hyalin (différence avec les desmolases) ou fixées sur les mitochondries (amylases de l'amibe par exemple). (Travaux de LINDERSTROM-LANG, HOLTER, KOPAC, DOYLE).

Catalysent les réactions d'oxydations après l'intervention des déshydrases (ex : diaphorase dont la codeshydrase est la codeshydrase III au groupement actif isoalloxazinique; succinodeshydrase, etc...).

Parmi les desmolases il faut citer : les cytochromes et la cytochromoxydase (analogue sans doute avec le pigment respiratoire de WARBURG et l'indophénoloxydase des cytochimistes).

Enzymes catalysant les clivages hydrolytiques, exemple : dipeptidase, polypeptidase, amylase, phosphatase, ribonucléase, arginase, etc...

SPERMATOGÉNÈSE.

Il y aurait lieu, selon MONNÉ, de distinguer dans la structure cytoplasmique du spermatozoïde le « spongioplasme », riche en lipides (d'où sa birefringence) et l' « enchylème », fluide, pauvre en graisses et contenant les mitochondries. La membrane nucléaire devrait sa birefringence à sa structure particulière (accollement de folioles protéiques).

Lors du stade leptotène on note un enrichissement du noyau en acide thymonucléique. Ce dernier ne serait nullement responsable de l'épaississement noté au stade pachytène qui est postérieur mais serait en rapport avec la reduplication des genes (CASPERSSON).

On note également au cours de la spermiogénèse un abaissement considérable de la teneur du noyau et du cytoplasme en acide ribonucléique qui tend à disparaître. Les cellules en mitose ont d'ailleurs un cytoplasme beaucoup plus pauvre en acide ribonucléique que celles qui sont au repos ; cet acide passerait en effet à ce moment dans les chromosomes.

La phosphatase présente dans les noyaux jeunes, finit par disparaître des spermatozoïdes murs (KRUGELIS).

Les spermatozoïdes ont un métabolisme respiratoire élevé et utilisent principalement les glucides comme sources d'énergie (IWANOW, WINBERG, BRACHET, BARREN, GOLDINGER, etc...).

Il semble que leur motilité soit sous la dépendance de la présence d'esprit de fructose.

*N.B.* — A noter l'intervention de diverses glandes endocrines dans la détermination des processus de la gametogénèse (notamment de l'hypophyse par ses gonado-stimulines) ainsi que celle de diverses vitamines (notamment la vitamine E).

Chapitre III

## BIOCHIMIE DE LA FECONDATION

L'œuf vierge apparaît comme une cellule évoluant vers un état d'inhibition de plus en plus profond (diminution de la perméabilité, engagement des oxydations dans une voie anormale, qualitativement et quantitativement).

Il est entouré d'une gangue où s'accumulent des gynogamones, protéines complexes attirant les spermatozoïdes, activant leurs mouvements et tendant à les agglutiner (Lillie, Tyler, Hartmann, Shartan, Kuhn et Wallenfels, Fox, Cornman, Runnstrom). Ces gamones ont été élaborées par l'œuf au moment où il atteint sa maturité, peut-être même en sortent-elles au moment de la réaction corticale (Dalcq, Pasteels, Brachet).

Les spermatozoïdes ont un métabolisme élevé (richesse en ferments respiratoires) et produisent des androgamones qui neutralisent partiellement les gynogamones et assurent le mécanisme précis de la fusion des gamètes en même temps que les possibilités d'hybridation se trouvent limitées par un processus analogue à celui qui régit les phénomènes de l'immunité humorale.

Parmi les gamones précédentes se trouve une lysine, également protéique, qui permet au spermatozoïde de traverser la gangue muqueuse ovulaire et d'atteindre l'œuf.

Dès que l'œuf est touché par le spermatozoïde il se produit divers processus, difficiles à sérier dans le temps, qui se traduisent par les modifications suivantes :

a) élévation de la perméabilité;

b) réaction d'épuration de Bataillon avec élimination de substances osmotiquement actives.

En même temps le cortex ovulaire subit des transformations : la couche périphérique isotrope se liquéfie et ses molécules allongées s'orientent en lamelles birefringentes pour constituer la membrane de fécondation dont le durcissement tiendrait à la formation de liaisons -SS- (études de RUNNSTROM, MONNÉ, BROMAN et de WIKLUND au microscope polarisant).

Synchroniquement on assiste à la dissolution des granules corticaux de l'œuf (LINDAHL et MOSER).

La régulation de la respiration s'effectue conséquemment à la fécondation mais ses variations (qu'il s'agisse d'augmentation ou de diminution) sont en rapport avec les changements dont le cytoplasme ou le cortex ovulaire sont le siège, le spermatozoïde ne jouant ici qu'un rôle accessoire.

La quantité de ferments respiratoires présente dans l'œuf ne change pas à la fécondation (RUNNSTROM) et l'intensité respiratoire semble dépendre surtout de l'activité des deshydrases (BALLENTINE).

Le potentiel d'oxydo-réduction ($rH^2$) ne change pas, même chez l'Oursin où la respiration augmente fortement après la fécondation (NEEDHAM, RAPKINE, WURMSER, CHAMBERS). Le pH non plus n'est pas, en général affecté (VLES, REISS, RAPKINE, WURMSER, NEEDHAM, CHAMBERS) bien qu'il puisse, dans certains cas, se former alors un acide. Le quotient respiratoire varie parfois, indiquant un changement qualitatif du métabolisme.

La fécondation entraîne enfin une dénaturation reversible des protéines ovulaires avec libération de calcium. Ces protéines, primitivement allongées, s'uniraient alors en un réseau possédant la consistance d'un gel (coagulation de HEILBRUNN et MIRSKY). Les variations éventuelles des groupes - SH (RAPKINE) semblent solidaires de ce processus entraînant d'abord une protéolyse importante suivie d'une resynthèse de protéines (ORSTROM).

Rappelons à ce propos que les agents activateurs de l'œuf vierge (chaleur, acides, sels en solutions concentrées, U.V.) sont tous des agents capables de dénaturer les protéines.

L'œuf d'Oursin, le seul bien étudié jusqu'à ce jour, corrobore le schéma d'ensemble que nous venons de donner.

D'une façon générale, il semble que l'avenir de la biochimie de la fécondation réside davantage dans l'étude des protéines ovulaires que dans celle du métabolisme.

THÉORIES DE LA FÉCONDATION.

*Théorie de* J. LOEB. — Selon cet auteur la fécondation comprendrait deux phases :

a) Réaction membranogène par cytolyse du cortex ovulaire et engagement des oxydations dans une voie anormale.

b) Régulation de la respiration arrêtant l'extension du processus de cytolyse.

Cette théorie accorde peut-être une importance excessive à la réaction membranogène et à l'augmentation des oxydations, phénomènes d'ailleurs contingents comme le prouvent les processus de fécondation en anaérobiose.

Son aspect le plus intéressant réside surtout dans sa notion d'un premier temps de cytolyse à point de départ cortical.

*Théorie de* R.S. LILLIE. — Sélon cet auteur l'activation débuterait par l'hydrolyse d'une substance corticale, laquelle donnerait une « substance activante » qui déclencherait le développement, passé une certaine « concentration critique ». Les acides et la chaleur se révèleraient actifs en provoquant, par acidification du cytoplasme, la libération d'une substance précurseur de la substance activante. En fait on ne peut, à l'heure actuelle, décider si l'activation s'effectue en un ou deux temps.

*Théorie de* F.R. LILLIE. — Selon cet auteur le rôle essentiel serait assumé par la fertilisine (conçue actuellement comme mélange de gamones) toutefois la totalité du phénomène complexe de la fécondation ne paraît pas réductible à cet unique facteur.

*Théorie de* BATAILLON. — Comme LOEB il insiste sur la réaction corticale, pensant que celle-ci conduit à l'épuration de l'œuf vierge intoxiqué par les déchets de son méta-

bolisme, l'expulsion du liquide vitellin et l'augmentation de la perméabilité permettant la mise en marche du développement. Cette théorie, qui rappelle les vues d'ORSTROM sur la « désintoxication » (Enthemmung) déclenchée par la fécondation, ne prouve pas que l'épuration, condition nécessaire à la fécondation, soit suffisante pour assurer le développement.

*Théorie de* DALCQ *et* HEILBRUNN. — Ces auteurs mettent l'accent sur le « remaniement de la répartition des sels » conçu comme cause immédiate de l'activation.

Les travaux de MAZIA et ORSTROM (libération de calcium après l'insemination) et ceux de MIRSKY (diminution de la solubilité des protéines à ce moment) fournissent un appui biochimique à cette thèse mais il manque encore la preuve que ces deux processus sont liés, ainsi qu'il semble naturel de le penser.

CONCLUSIONS :

De cette brève étude il faut retenir, pensons-nous, les directives suivantes : le rôle de la fertilisine (F.R. LILLIE) ou des gamones, celui de la cytolyse initiale signalée par LOEB, à laquelle se rattachent les effets des réactions d'hydrolyse et des acides (R.S. LILLIE) ou des gamones (lysine spermatique), celui, enfin, du calcium (DALCQ, PASTEELS, HEILBRUNN).

Il importe de noter pour terminer, l'importance de la dénaturation réversible des protéines et de leur resynthèse (ORSTROM) celle des phénomènes de variations de leur solubilité (HEILBRUNN et MIRSKY) et celle des modifications des groupes -SH (RAPKINE), ces divers processus semblant conditionner les changements métaboliques signalés par ailleurs.

CHAPITRE IV

## BIOCHIMIE DE LA DIVISION CELLULAIRE

La question de savoir si des variations de métabolisme respiratoire accompagnent la mitose reste discutable ; l'impression générale est plutôt en faveur de l'existence de changements métaboliques au cours de la division cellulaire mais ils sont quantitativement peu importants et le fait que la mitose peut se dérouler en anaérobiose laisse à penser que les variations d'oxygène n'ont qu'une importance accessoire.

Il se peut d'ailleurs que l'augmentation des échanges soit liée simplement à l'accroissement des surfaces qu'entraîne la segmentation.

La migration des chromosomes vers les pôles semble s'expliquer à la lumière de l'hypothèse de RAPKINE selon laquelle le raccourcissement des fibres fusoriales (dont les chromosomes seraient solidaires) résulterait du retour de la molécule constitutive des fibres à son état natif (transformation des molécules fibreuses en molécules globuleuses).

Le raccourcissement des chromosomes lors de la métaphase résulterait de façon analogue du raccourcissement des molécules de la nucléo-histone (ATSBURY et BELL) sans doute sous l'influence d'ions calcium $Ca^{++}$.

Le fait que les nucléoprotéines sont des molécules « dipoles » expliquerait également l'appariement des chromosomes lors de la meiose (FRIEDRICH-FREKSA).

Les raisons pour lesquelles une cellule entre en mitose demeurent toutefois inconnues à l'heure actuelle et l'une

des tâches les plus fructueuses de l'avenir serait de préciser, à ce propos, la nature des relations existant entre les agents cancerigènes, les granules nucléo-protéiques du protoplasme, les groupes - SH et la mitose.

CHAPITRE V

# EMBRYOLOGIE CHIMIQUE DES INVERTÉBRÉS (MOSAIQUE ET REGULATION)

Tout œuf est capable d'un certain pouvoir de régulation, fort variable d'ailleurs : très marqué chez l'Oursin (cas des œufs dits « à régulation ») il est beaucoup plus limité chez les Ascidies, de nombreux Vers et les Mollusques (cas des œufs dits « à mosaïque »).

Cette première distinction, établie d'abord, par l'embryologie expérimentale, dans la seule perspective morphologique, encore qu'elle fut confirmée par certaines données cytologiques (exemple les travaux de E.B. WILSON, l'étude de CONKLIN sur la pigmentation de l'Ascidie, etc... études qui avaient conduit à la notion de plasmes ou de territoires organoformateurs) devait naturellement conduire à des recherches basées sur l'emploi de techniques cytochimiques.

Les études de RIES ont confirmé nettement l'hypothèse d'une structure plus complexe des œufs en mosaïque que de ceux qui sont susceptibles de régulation. Toutefois les résultats des recherches cytochimiques sont sujets à caution du fait de causes d'erreur multiples. C'est ainsi que SPEK prétendait avoir trouvé dans l'œuf une organisation bipolaire sur la base de différences de pH alors que celles-ci ne semblent porter que sur les enclaves sans affecter l'hyaloplasme et sont d'ailleurs sous la dépendance de techniques de mesure comportant des erreurs excessives (erreurs saline, protéique, métachromatique, etc...). Cet auteur voyait dans ces expériences l'indice d'une migration cataphorétique cependant que GERSH et RIES les interprètent dans le sens d'une demixtion entre vitellus et cytoplasme formateur. La sédimentation est d'ailleurs susceptible de faire

varier le comportement de l'œuf vis-à-vis des colorants alors que l'axe primaire, physiologique, de l'œuf n'influence en rien les résultats.

Si l'existence d'une différenciation bipolaire de l'œuf semble un facteur morphogénétique important le phénomène découvert par SPEK n'est pas spécifique des œufs en mosaïque car il fait défaut chez certains d'entre eux et se montre chez des formes susceptibles d'une large régulation.

Il reste que la maturation s'accompagne souvent d'une migration de matériaux différents vers les deux pôles de l'œuf, sans doute en conséquence de l'accumulation de vitellus au pôle végétatif. La coloration vitale établit que le vitellus se comporte comme s'il avait une réaction acide et le cytoplasme une réaction alcaline, sans qu'on puisse toutefois conclure qu'il s'agit réellement de différences de pH.

Si on peut concevoir que les potentialités des divers territoires sont commandées par les proportions des substances qui s'y trouvent la morphogénèse ne paraît pas pouvoir dépendre de facteurs aussi simples que la différenciation bipolaire de SPEK, la variation graduelle du métabolisme respiratoire (gradient métabolique de CHILD) ou encore le taux de variation de certaines substances le long d'un gradient unique (BOVERI).

Selon PELTRERA les différents « plasmes » de l'œuf correspondraient plutôt à des « équilibres cytochimiques » (qu'on ne pourrait troubler sans perturber le développement normal) qu'à de véritables « territoires organoformateurs ».

Il n'existe pas davantage d'indications en faveur du fait que les divers territoires des œufs en mosaïque se distinguent par des intensités respiratoires spéciales. D'ailleurs des territoires à destinées variables ne diffèrent pas nécessairement au point de vue du taux des oxydations.

### MORPHOGÉNÈSE ET MÉTABOLISME CHEZ L'OURSIN.

Bien que l'œuf d'Oursin présente un pouvoir régulateur étendu (DRIESCH) les travaux de BOVERI ont mis en évidence l'existence de différences se manifestant le long de l'axe animal-végétatif. Pour cet auteur certaines substan-

ces nécessaires à la morphogénèse verraient leur concentration diminuer régulièrement d'un pôle à l'autre. De façon voisine RUNNSTROM conçoit l'œuf comme le siège de deux gradients antagonistes, l'un animal, l'autre végétatif.

Trois théories se trouvent actuellement en présence pour expliquer la morphogénèse chez l'Oursin :

a) Selon LINDAHL il existerait à chaque pôle un métabolisme qualitativement différent dont l'intensité s'atténuerait graduellement vers l'extrémité opposée, le pôle animal étant caractérisé par un catabolisme glucidique (inhibé par le lithium) et le pôle végétatif par un catabolisme protidique.

b) Selon CHILD la morphogénèse serait contrôlée par un gradient physiologique décroissant progressivement selon l'axe de l'organisme. Ce serait également un gradient métabolique en ce sens que l'intensité des oxydations décroîtrait régulièrement le long de l'axe principal. CHILD estime par ailleurs que la variation quantitative d'un facteur unique le long de l'axe animal végétatif suffit à expliquer l'ontogénèse de l'Oursin sans qu'il soit nécessaire de faire appel à des différences régionales spécifiques.

c) Selon RANZI l'œuf se présenterait de façon homogène mais une substance produite au pôle végétatif par les micromères y abaisserait le métabolisme et y éléverait le $rH^2$ d'où l'apparition d'une inégalité dans le pouvoir réducteur entre les deux pôles.

En opposition avec les conceptions de CHILD et de RANZI, les recherches de LINDAHL et HOLTER ont toutefois montré que l'œuf d'Oursin ne possède pas de gradient respiratoire animal-végétatif.

CONCLUSIONS. — Ces oppositions théoriques ne sont que le résultat de l'insuffisance des techniques cytochimiques actuelles entachées de nombreuses causes d'erreurs. Le principal souci de l'avenir devra donc porter d'une part sur leur affinement et de l'autre sur la détermination de la nature réelle des hétérogénéités qu'elles révèlent.

Chapitre VI

## CROISSANCE — DIFFERENCIATION METABOLISME

On peut concevoir le développement embryonnaire comme la résultante de trois processus, plus ou moins distinguables, le simple maintien ou simple entretien (« maintenance » des auteurs Anglo-Saxons) qui permet à l'œuf de conserver intacte sa structure (analogie avec les cas de « diapause » ou de « quiescence »).

La croissance qui consiste en augmentation des éléments plastiques à partir de métabolismes (transformation des aliments en protoplasme) et qui peut se produire sans différenciation (cas des embryons anides (Dareste, Gredzinski).

La différenciation enfin, ensemble des changements morphogénétiques caractérisant le développement et l'élaboration de substances spécifiques par les différents tissus. On peut observer parfois la « différenciation sans clivage » (F.R. Lillie) quoique dans ce cas l'activité mitotique (abortive) ne soit pas complètement inexistante.

Il ne semble pas que la morphogénèse puisse s'accomplir sans une certaine croissance.

Le développement s'accompagne d'une élévation progressive du métabolisme et une partie de l'énergie des oxydations sert probablement à assurer la croissance et la différenciation, quoique certaines données laissent à penser que ces processus n'exigent que peu d'énergie (Tyler).

Le lien établi entre la croissance et le métabolisme glucidique n'existe pas nécessairement pendant la segmentation.

L'utilisation des sucres est plutôt en rapport avec la

synthèse du protoplasme entre les mitoses qu'avec la division cellulaire proprement dite.

Abstraction faite de la segmentation il semble que l'embryon utilise d'abord ses glucides et n'attaque ses protides et lipides en quantités appréciables que plus tard.

Il paraît enfin se dégager une relation entre la croissance et la glycolyse d'une part et la différenciation et la respiration d'autre part.

Toutefois on ne comprendra réellement les bases du développement embryonnaire que le jour où on sera parvenu à relier les données relatives au métabolisme et celles relatives à la structure des protéines.

CHAPITRE VII

# SYNTHESE, LOCALISATION ET ROLE PHYSIOLOGIQUE DES ACIDES NUCLEIQUES

SYNTHÈSE DES ACIDES NUCLÉIQUES :

Une des conséquences de la segmentation est l'augmentation du nombre des noyaux qui se poursuit d'ailleurs au cours des étapes ultérieures de l'ontogenèse. Elle implique une synthèse de constituants nucléaires, notamment de chromatine et, plus précisément, de l'acide thymonucléique qui en constitue une partie importante (HERTWIG, LOEB, BOVERI).

Se basant sur l'augmentation du rapport nucléoplasmique de R. HERTWIG, GODLEWSKI admettait une synthèse très notable de constituants nucléaires mais cette synthèse semble moins marquée que cet auteur le pensait car la segmentation entraîne une diminution de taille des chromosomes, rien d'ailleurs n'indiquant que la teneur des noyaux en acides nucléiques soit la même aux différents stades. Il importe de remarquer également que l'anaérobiose n'est pas une condition nécessaire de ce processus et qu'il peut se produire une synthèse anaérobique d'acide thymonucléique.

Selon LOEB les phénomènes observés correspondraient à une synthèse totale affectant le type de courbe en S propre aux réactions chimiques monomoléculaires autocatalytiques. Pour GODLEWSKI il s'agirait de phénomènes de migration de substances nucléaires entre le cytoplasme et le noyau. Selon J. NEEDHAM et D. NEEDHAM les œufs d'animaux terrestres effectueraient une synthèse totale conformément aux vues de LOEB, alors que ceux des espèces aqua-

tiques posséderaient un matériel préformé qui subirait lors de la segmentation une réorganisation le transformant en chromatine.

La synthèse serait totale chez les Insectes, les Amphibiens et les Oiseaux; chez les Amphibiens toutefois le vitellus contiendrait déjà une proportion appréciable de ribonucléoprotéides préformées.

Aux théories précédentes s'ajoute celle de J. BRACHET sur la synthèse partielle. Cette conception s'appuie sur le fait que les œufs vierges d'Oursin ne contiennent jamais que des traces d'acide thymonucléique et sont le siège d'une synthèse massive de cet acide au cours du développement, cette synthèse se poursuivant au delà de la segmentation et évoluant de façon linéaire en fonction du temps.

Le plateau décrit par GODLEWSKI et LOEB et interprété par ce dernier comme le signe d'une réaction monomoléculaire autocatalytique ne se retrouve pas lorsqu'on dose uniquement l'acide thymonucléique; elle intéresse uniquement le volume nucléaire total. Cette discordance provient de ce que la teneur du noyau en acide thymonucléique augmente fortement pendant la segmentation. La synthèse de cet acide s'accompagnant d'un abaissement parallèle de la teneur en acide ribonucléique du cytoplasme il semble que cette synthèse s'effectue à partir de ce corps sans doute après un processus d'hydrolyse aboutissant à la formation de mononuclétides. Le mécanisme de cette synthèse biochimique nous échappe totalement.

Dans les espèces à synthèse complète l'embryon est capable de synthétiser ses acides nucléiques aux dépens de phosphore inorganique quelconque (travaux de HEVESY, LEVI et REBBE à l'aide de phosphore radioactif) ; il n'a donc pas nécessairement recours, comme le pensait LOEB, au phosphore lipidique des phosphatides.

Les théories que nous venons de rappeler ne sont nullement incompatibles et l'on est, en fait, conduit à penser que les œufs à synthèse totale ou partielle ne diffèrent que quantitativement; chez les seconds le catabolisme de l'acide ribonucléique dépasse son anabolisme; chez les premiers

c'est l'inverse qui se produit parce qu'ils sont le siège d'une synthèse intense de protéines.

LOCALISATION DES ACIDES NUCLÉIQUES.

Il semble démontré que l'acide thymonucléique existe uniquement au niveau de la chromatine, à l'état physiologique du moins.

La présence d'acides ribonucléiques chez les animaux est actuellement établie et leur localisation ne fait pas de doute; on les rencontre, associés à des histones, dans le nucléole et le cytoplasme, la chromatine, surtout l'hétérochromatine, en renferme une forte proportion. Ils abondent particulièrement dans l'ergastoplasme des cellules glandulaires ou des jeunes oocytes; on les trouve partout où existe une forte synthèse de protéines.

D'une façon générale les acides ribonucléiques se présentent soit sous forme « libre » soit sous forme « liée » à des granules (microsomes de CLAUDE, anabolites de KEDROWSKI) dont les rôles respectifs seront envisagés plus loin.

CHROMATINE, NUCLÉOLE ET ACIDES NUCLÉIQUES.

La chromatine nucléaire serait constituée par deux substances distinctes, l'hétérochromatine et l'euchromatine, cette dernière renfermant de l'acide thymonucléique associé à des histones et la première les acides thymo et ribonucléiques associés à de grosses molécules d'histones. Les disques clairs interposés entre les chromomères seraient constitués par des protéines complexes analogues aux globulines et ne renfermeraient pas d'acides nucléiques.

La division cellulaire affecte profondément les nucléoprotéides et s'accompagne de synthèse d'acide nucléique avec, probablement, destruction et simplification de protéines. Simultanément le nucléole disparaît et l'ergastoplasme se résout en fines granulations éparses dans l'aire cellulaire.

L'appareil achromatique se charge fréquemment d'acide ribonucléique tandis que la teneur du cytoplasme en cet acide diminue. Les chromosomes s'enrichissent alors en

acide ribonucléique qui contribue peut-être à la synthèse de l'acide thymonucléique. Au cours de la télophase se produit un retour progressif à l'état initial.

La substance des chromosomes apparaît comme en incessante régénération ainsi qu'on pouvait d'ailleurs le penser depuis les observations déjà anciennes de modifications de colorabilite de la chromatine au cours de la mitose. Elle est le siège d'un métabolisme dont la nature nous échappe encore, mais dont le rôle, au point de vue génétique, a peut-être une signification profonde.

PHYSIOLOGIE DES ACIDES NUCLÉIQUES.

Les acides nucléiques subissent dans l'œuf en voie de développement une évolution complexe; une partie sert à la synthèse d'acide thymonucléique mais s'il se produit à ce moment une synthèse de protéines on assiste à une élévation de la teneur en ribonucléoprotéides. On peut prévoir que cette élaboration de nucléoprotéides cytoplasmiques se manifestera surtout au moment de la différenciation cellulaire lorsque s'ébauchent les protéines caractéristiques de chaque organe ou au moment où certaines cellules s'orientent vers un pôle sécrétoire.

A l'euchromatine serait dévolue la synthèse des protéines spécifiques par lesquelles s'exerce l'action des genes.

L'hétérochromatine élaborerait les nucléoprotéides du nucléole qui induiraient la synthèse des nucléoprotéides cytoplasmiques auxquelles serait dévolue la synthèse des protéines banales.

La fraction libre, plus labile, des ribonucléoprotéides cytoplasmiques interviendrait dans la synthèse de l'acide thymonucléique et la production de cophosphorylases.

Dans les granules renfermant les ribonucléoprotéides « liées », les divers constituants, de poids moléculaires très différents, seraient associés en un complexe. L'acide ribonucléique se trouverait à la périphérie de la particule qui servirait de support à divers enzymes (hydrolases, desmolases) à la succinodeshydrase et à la cytochromoxydase.

Il semble que les enzymes respiratoires associés aux granules doivent être combinés à l'acide ribonucléique pour

pouvoir fonctionner : ils assurent la production d'énergie nécessaire aux synthèses endothermiques.

Le granule ainsi constitué se présente comme l'organite idéal (notamment au niveau des mitochrondries et de l'ergastoplasme) pour effectuer la synthèse des protéines dont il renfermerait déjà de petites quantités.

Le rôle des acides nucléiques dans ces phénomènes reste discuté (voir les hypothèses de FRIEDRICH-FRESKA, RONDONI, etc...). Il se pourrait que l'acide ribonucléique intervienne, pour une part, en précipitant les produits synthétisés par les protéases et en déplaçant ainsi constamment l'équilibre de la réaction enzymatique dans le sens de la synthèse, les histones combinées à ces acides pourraient également intervenir dans l'élaboration des protéines; les acides aminés résultant du catabolisme se disposeraient en ordre précis à la surface des granules attirés par les charges électriques de ses divers constituants, ils seraient unis par les protéases avec l'assistance des ferments respiratoires et l'acide nucléique orienterait la réaction dans le sens de la synthèse.

CHAPITRE VIII

# EMBRYOLOGIE CHIMIQUE DES ŒUFS DE BATRACIENS

Selon CHILD la sensibilité élective de portions définies d'un organisme aux poisons est la preuve qu'elles sont le siège d'une activité métabolique intense. Cet auteur admet dans l'œuf de Grenouille un gradient primaire, décroissant selon l'axe pôle animal-pôle végétatif et un gradient secondaire apparaissant à la gastrulation au niveau de la lèvre dorsale du blastopore (zone de l'organisateur de SPEEMANN). Selon son élève BELLAMY (1919-1922) ces deux régions seraient particulièrement sensibles aux agents toxiques auxquels elles répondraient par un arrêt de développement ou par cytolyse. On ne peut cependant rien en inférer quant au métabolisme de ces territoires.

L'anaérobiose n'empêche pas la segmentation de l'œuf de Grenouille (SAMASSA, GODLEWSKI, BATAILLON, PARNAS et KRASINSKA, LENNERSTRAND, J. BRACHET) mais la capacité de développement en anaérobiose diminue au fur et à mesure du développement pour cesser au stade de neurula avancée.

La comparaison de neurulas de diverses espèces quant à leur aptitude à fermer la plaque médullaire en anaérobiose révèle de grosses différences (SPIRITE).

La susceptibilité au cyanure de potassium s'accroît également au cours du développement avec, de même, des variations considérables selon les espèces (BATAILLON, BELLAMY, J. BRACHET, SPIRITE).

L'effet des narcotiques, contrairement à celui du cyanure, décroît au cours du développement (KEILIN, HEILBRUNN, BELLAMY, HILLER, TAMINI, PARNAS et KRASINSKA,

MARX, J. BRACHET) l'altération principale paraissant résider dans une gélification du cytoplasme lors de la mitose avec arrêt consécutif de la plasmodiérèse, sans inhibition des divisions nucléaires mais avec réduction des oxydations.

Il résulte de ces essais que les inhibiteurs spécifiques du métabolisme n'affectent pas électivement la morphogenèse, par contre certaines substances (lithium, sulfocyanure) semblent toucher spécifiquement certains rouages de la morphogénèse mais leur mode d'action sur le chimisme nous échappe d'autant plus que des anomalies identiques peuvent être produites par des toxiques divers susceptibles d'associer une toxicité banale à des effets plus caractéristiques.

L'utilisation des glucides ne devient appréciable qu'au moment de la gastrulation qui apparaît comme un tournant dans le métabolisme de l'œuf. A ce moment le catabolisme glucidique devient réellement important mais ses variations au cours des stades ultérieurs ne sont pas encore suffisamment établies. Corrélativement la teneur de l'œuf en acide lactique ne cesse de s'élever pendant son développement, l'accroissement étant particulièrement net au moment de la gastrulation.

La question de savoir si l'utilisation du glycogène se fait par glycolyse typique (comme dans le muscle) ou sans intervention de phosphates comme le soutient NOVINSKI (dont la position se rapproche de celle de NEEDHAM) pour l'embryon de Poulet; glycolyse sans phosphorylation ne peut être tranchée à l'heure actuelle.

De la fécondation à la fin de la neurulation on assiste à une augmentation du phosphore inorganique (en rapport avec une hydrolyse de la phosphocréatine dont le taux s'élève ultérieurement) ainsi qu'à un accroissement du phosphore organique acide-soluble (ZIELINSKI, J. BRACHET).

Dans les stades jeunes tout au moins le métabolisme lipidique se montre moins important que celui des glucides (PARNAS et KRASINSKA, BIALASZEWICZ et MINCEVNA).

L'excrétion d'azote, minime et se produisant lors de l'accomplissement de la morphogenèse fondamentale, in-

dique un catabolisme protidique atténué (BIALASZEWICZ et MINCEVNA, J. BRACHET). Par contre l'emploi intensif du vitellus, après hydrolyse préalable, vraisemblablement (PARNAS et KRASINSKA) laisse supposer qu'il n'est brûlé que dans une proportion infime et surtout utilisé pour l'élaboration de protéines spécifiques de chaque organe embryonnaire, d'où son lien étroit avec la morphogenèse (KONOPACKI et KONOPACKA, BRAGG, IVANOV, HOADLEY, G. HARTWIG, POETER).

Au cours de son développement, l'œuf subit une hydratation considérable (SCHAPER et DRAGOIRE, DAVENPORT, FAURÉ-FREMIET) qui importe à sa croissance, depuis les premiers stades plus encore que la multiplication cellulaire.

L'œuf fécondé renferme une quantité de ferments respiratoires suffisante pour catalyser des réactions d'oxydations beaucoup plus élevées que celles qu'il présente normalement, fait qui indique que ce ferment est vraisemblablement loin d'être saturé par ses substrats. Il renferme également de la catalase (HERLITZKA, BIALASZEWICZ et MINCEVNA, etc...).

La diminution progressive de résistance à l'anaérobiose tient vraisemblablement à la diminution d'une réserve oxydante et à l'accroissement des besoins énergétiques au cours de l'ontogenèse. La glycolyse paraît un facteur moins important que la continuation des oxydations aux dépens de cette réserve et il est probable que la catalase et les groupes - SS - (glutathion oxydé notamment) interviennent dans la respiration anaérobique de l'œuf.

Les mesures de pH et de $rH^2$ enfin révèlent l'existence d'une hétérogénéité selon l'axe de polarité (variations continues de nature en apparence simplement quantitative).

## Chapitre IX

# ORGANISATEUR, INDUCTION, BIOCHIMIE

### Généralités.

Le système nerveux des Vertébrés ne se différencie pas de façon autonome mais résulte d'une induction par les cellules sous-jacentes qui constituent l'organisateur de Speemann.

Celui-ci est localisé dans la lèvre dorsale du blastopore au stade jeune gastrula ; à la fin de celle-ci il s'identifie avec le toit de l'archenteron (future chorde et entoblaste préchordal). Son action (induction neurogène) entre en jeu chez tous les Vertébrés. D'autres organes que le système nerveux peuvent naître par induction mais les effets de l'induction neurogène primaire ont principalement retenu l'attention de l'embryologie expérimentale et chimique.

Selon Child (auquel les travaux de Bellamy, Gilchrist, etc... ont apporté un certain appui), l'organisateur résulterait de l'apparition, lors de la gastrulation, d'un nouveau gradient physiologique (doué d'un métabolisme intense) se substituant au gradient primaire animal-végétatif. A. Brachet (1931) inclinait également pour une conception analogue.

Toutefois Marx démontrait bientôt que l'organisateur « narcotisé » demeure inducteur, fait difficilement conciliable avec la théorie de Child.

Peu de temps après (1932) Bautzmann, Mangold, Holtfreter et Speemann établissaient que l'organisateur « tué » conserve son pouvoir inducteur, donc que l'induction est due à une substance chimique présente dans l'organisateur. Bien qu'il fut possible que cette substance naquit à la suite d'un métabolisme actif et se répartit selon un

gradient ces constatations portèrent un coup sensible à la théorie de CHILD.

Selon DALCQ et PASTEELS (modifiant la conception de BOVERI d'un « gradient de substance ») la morphogenèse résulterait de l'interaction d'un gradient vitellin (animal-végétatif à foyer maximum au niveau du pôle végétatif) et d'un champ dorsal (dorso-ventral à foyer dorsal et à localisation probablement corticale) c'est de cette interaction que naîtrait la substance organisatrice, la segrégation des diverses ébauches s'expliquant par l'hypothèse d'une série de « seuils » successifs correspondant à autant de « potentiels morphogénétiques » distincts.

DONNÉES CYTOCHIMIQUES.

Les résultats relatifs aux lipides (travaux de VOSS sur le « plasmalogène ») et au glycogène se sont révélés assez décevants et entachés d'erreurs multiples dues à des artefacts (WOEDERMANN et RAVEN affirment que l'invagination s'acompagne de glycogénolyse massive au sein des tissus invaginés, l'ectoblaste et le système nerveux conservant leur glycogène alors que PASTEELS dénie à ce phénomène toute portée générale).

En ce qui concerne les protides dont la fixation in situ est plus facile les résultats obtenus sont plus significatifs. Ils mettent en évidence un gradient primaire animal-végétatif et confirment l'apparition d'un centre d'activité ultérieur au niveau de la lèvre dorsale du blastopore. Leur signification essentielle a été d'établir que des ribonucléoprotéides s'accumulent en tous les points où la morphogénèse est active (IVANOV, KEDROWSKI, J. BRACHET, GIOLITTI, etc...) ; ces substances jouant un rôle (direct ou non) dans les synthèses des protéides on peut en déduire que celles-ci sont particulirèement intenses dans les régions où l'expérimentation a précisément mis en évidence des rouages importants de l'embryogénèse. Par ailleurs l'étude du pouvoir réducteur a montré de façon nette qu'il varie parallèlement à la richesse régionale en ribonucléoprotéides (FISCHER, HARTWIG, PIEPHE, J. BRACHET) sans qu'il soit possible de décider si les groupes - SH interviennent dans ce

processus et sans qu'on puisse conclure qu'un pouvoir réducteur élevé soit l'indice d'une respiration intense.

MÉTABOLISME DE L'ORGANISATEUR.

L'organisateur ne possède pas une respiration quantitativement plus élevée que celle des autres territoires de la gastrula (WADDINGTON, NEEDHAM, J. BRACHET).

Par contre il possède un quotient respiratoire élevé (indication d'un catabolisme glucidique) et c'est à son niveau que débute l'oxydation des sucres au cours de la gastrulation (J. BRACHET).

La moitié ventrale se caractérise par contre par un coefficient beaucoup plus bas.

La différence entre ces deux régions serait d'abord qualitative et ne deviendrait quantitative (au profit du côté dorsal) qu'au moment où la gastrulation s'achève (BOELL, NEEDHAM, BRACHET).

Dans les neurulas avancées la consommation d'oxygène est plus élevée dans la partie céphalique que dans la moitié caudale (FISCHER, HARTWIG, STEFANELLI).

L'intensité du métabolisme des différentes régions de l'œuf paraît conditionnée par la proportion relative des ribonucléoprotéides et du vitellus à leur niveau (le vitellus ayant un effet inverse des ribonucléoprotéides qui servent de support à des ferments respiratoires très importants).

D'une façon générale le catabolisme glucidique de l'organisateur (en anaérobiose comme en aérobiose) est beaucoup plus intense que celui des territoires ventraux correspondants; il semble surtout porter sur le desmoglycogène, lié aux protéines (HARTLEY et LINDAHL).

La production d'ammoniaque en anaérobiose est beaucoup plus accentuée au niveau de l'organisateur dans la gastrula, elle décroît après la neurulation (BOELL, NEEDHAM et ROGERS).

La grosse majorité du glycogène utilisé pendant la gastrulation disparaît à la suite de l'invagination de l'organisateur (LINDHAL et HARTLEY).

Ces différents faits établissent le caractère unilatéral et insuffisant de la théorie de CHILD : d'autres facteurs que

le métabolisme respiratoire interviennent en effet, notamment la proportion entre ribonucléoprotéides et vitellus. D'autre part cet auteur conçoit ses gradients comme de nature exclusivement quantitative cependant que les mesures de quotient respiratoire établissent l'entrée en jeu de différences qualitatives des métabolismes locaux.

MÉTABOLISME DE L'ORGANISATEUR ET INDUCTION.

L'élévation du métabolisme par chauffage local ne suffit pas à provoquer l'induction neurale, les quelques cas où une plaque médullaire secondaire a été obtenue semblent s'expliquer par un clivage mécanique de l'organisateur. Le pouvoir inducteur de l'organisateur ne paraît donc pas lié à l'intensité respiratoire (MARGEN et SCHECHTMAN).

La stimulation du catabolisme glucidique ne suffit pas à libérer la substance inductrice et à produire la neurulation (BEATTY, DE JONG, ZIELINSKI, BOELL, J. NEEDHAM). L'organisateur conserve son plein pouvoir lorsqu'il ne dispose que de la glycolyse et de sa réserve oxydante comme sources d'énergie.

Le blocage des radicaux - SH entrave l'induction neurale tandis que l'addition de corps sulfhydriles à de l'épiblaste présomptif peut y susciter l'apparition d'un système nerveux (J. BRACHET, RAPKINE, RANZI, TAMINI).

En conclusion : l'élévation du métabolisme glucidique ne suffit pas à provoquer l'induction dans l'épiblaste, l'abaissement du taux des oxydations n'empêche pas l'induction normale, le point de savoir si cette induction reste possible lorsqu'on inhibe le catabolisme glucidique reste en suspens (J. BRACHET).

NATURE DE LA SUBSTANCE INDUCTRICE.

L'aspect assez complexe de ce problème rend opportun d'en préciser les grandes étapes.

Les travaux de BAUTZMANN, HOLTFRETER, MANGOLD et SPEEMANN (1932) ont établi tout d'abord que l'organisateur tué (par des agents divers : chaleur, dessication, fixation, congélation, etc...) conserve son activité. L'idée s'imposa alors que l'organisateur (c'est-à-dire la lèvre blastoporale

puisqu'il s'agit de l'organisateur primaire) doit son pouvoir inducteur à une substance chimique.

Des recherches ultérieures de BAUTZMANN, HOLTFRETER, etc... établirent ensuite que les organes les plus divers, vivants ou tués, sont susceptibles de provoquer des phénomènes d'induction lorsqu'on les implante dans la gastrula; les organes et tissus de Vertébrés sont à cet égard, plus actifs que ceux des Invertébrés; les Végétaux semblent faire exception quoique plusieurs faits donnent à penser que l'existence de membranes cellulosiques s'oppose à la diffusion de la substance inductrice (travaux de RAGOSINA et TOIVONEN).

Plusieurs remarques sont à faire à ce sujet :

a) l'absence de relation entre activité inductrice et activité de la glycolyse dans les tissus essayés;

b) l'infériorité de ces « inducteurs hétérogènes » par rapport à l'organisateur vivant (J. NEEDHAM, WADDINGTON, D. NEEDHAM). En effet les inducteurs hétérogènes sont plutôt des « évocateurs » (c'est-à-dire provoquent une induction neurogène atypique) que des « organisateurs » capables de déclencher une induction neurogène typique (« individuation » proprement dite s'opposant à la simple « évocation »). Le terme d'organisateur doit donc être exclusivement réservé à la lèvre blastoporale dorsale.

D'autre part l'action des inducteurs hétérogènes comporte une série de réactions graduées dont il est parfois difficile de décider le caractère positif ou non.

Il n'est également pas établi qu'ils contiennent réellement la substance active; celle-ci pourrait en effet naître secondairement par autolyse ou digestion.

Enfin, contrairement à ce qu'on obtient avec l'organisateur normal, les divers extraits préparés ne provoquent jamais d'induction mesodermique associée.

Un pas important fut franchi après les travaux de WADDINGTON et D.M. NEEDHAM démontrant que des hydrocarbures polycliques de synthèse sont également évocateurs. Des impuretés d'origine biologique ne peuvent en effet être incriminées dans l'action de ces corps de synthèse,

étrangers à l'organisme vivant. Selon les auteurs précédents l'évocateur serait un stérol défini.

Les travaux de l'école allemande (FISCHER, WEHMEIER, H. LEHMANN, JUHLING et HULTZSCH) s'opposent à cette conclusion; en effet le pouvoir inducteur d'organes tués demeure intact lorsqu'on les délipide soigneusement. Le résidu actif serait constitué par des nucléoprotéines et celles-ci agiraient probablement grâce à leurs fonctions acides. Seules les substances acides (hydro ou lipo-solubles, peu importe) seraient donc susceptibles de déterminer l'évocation d'un système nerveux dans l'épiblaste; cette évocation ne serait donc pas une réaction spécifique mais pourrait être provoquée par des acides variés.

Devant ces contradictions il semblerait naturel de penser que le pouvoir évocateur de nombreuses substances donnant des résultats positifs serait dû à la libération de l'évocateur réel masqué dans un complexe inactif (WADDINGTON).

De nombreuses causes d'erreur peuvent évidemment intervenir (WOERDEMAN), en particulier :

a) les évocateurs pourraient n'être que des stimulants, incapables d'éveiller dans l'hôte des potentialités nouvelles et influençant seulement les divers territoires de l'hôte de façon à favoriser leur réaction.

b) celle-ci d'autre part, dépend en partie de la région choisie, le système nerveux induit étant d'autant plus volumineux et bien conformé que la région d'expérience est choisie dorsalement et antérieurement.

Pour BARTH l'évocation serait un processus voisin de la parthénogenèse et aurait la signification d'une simple réaction à des stimuli extrêmement divers au point de vue chimique. Cet auteur justement sur le fait de l'influence des protéines dans ce processus et sur les causes d'erreurs graves qui peuvent résulter d'une cytolyse locale stimulant secondairement l'ectoderme (voir les travaux de COHEN sur l'influence des nécroses locales par thermocautérisation), encore que MARGEN et SCHECHTMAN aient obtenu des résultats négatifs à la suite de lésions mécaniques de la gastrula.

Les travaux d'OKADA sur le pouvoir faiblement inducteur de substances inertes (terre à foulon, silice, carbonate de calcium) semblent devoir s'expliquer par les considérations précédentes : clivage du toit archentérique lors de l'implantation, cytolyse locale libérant la substance évocatrice, etc...

Le fait que les territoires de la gastrula qui ne sont pas inducteurs à l'état vivant le deviennent après avoir été tués pourrait conduire à penser que ce changement est lié à une dénaturation des protéines avec élévation de la teneur en groupes SH libres. Toutefois certaines expériences semblent indiquer que les groupes - SH sont plutôt nécessaires à la réaction du neuroblaste à l'inducteur qu'à l'induction proprement dite par celui-ci (RAPKINE, J. BRACHET).

Le fait, enfin que la fréquence des évocations est grossièrement parallèle à la teneur en acide ribonucléique des implantats (J. BRACHET) laisse supposer que l'activité évocatrice pourrait être sous la dépendance de la teneur en acide ribonucléique bien qu'il soit prématuré de préciser actuellement si cet acide agit simplement en tant que stimulant acide ou par les nucléotides auxquels il peut donner naissance.

En résumé le pouvoir évocateur des inducteurs hétérogènes, en particulier des organes tués, semble lié à leurs acides nucléiques qui subissent une dégradation dans l'hôte.

Rien ne permet toutefois d'affirmer que cette conclusion est également valable pour l'organisateur vivant (J. BRACHET).

SPÉCIFICITÉ DES INDUCTEURS.

L'induction neurogène n'est qu'un exemple particulièrement net d'induction mais le développement morphogénétique présente de nombreux cas analogues (organes des sens, dérivés mésoblastiques, etc...) et cette constatation pose le problème de l'unicité ou de la pluralité des substances chimiques responsables de l'induction.

Dans la seconde hypothèse il est nécessaire de savoir si l'influence régionale de l'hôte sur les réponses à l'induc-

teur ne sera pas telle qu'elle masque la spécificité (supposée) des différents évocateurs.

Selon CHUANG et TOIVENEN, WOERDEMAN, F.E. LEHMANN, etc..., le système nerveux, les organes des sens et les dérivés mésoblastiques se constitueraient sous l'influence de substances spécifiques pour chacun de ces cas (Hypothèse pluraliste). Peut-être ces variations d'ordre qualitatif seraient-elles d'ailleurs peu accusées.

Selon DALCQ et PASTEELS, REITH, etc..., les différences relevées entre les inducteurs seraient purement quantitatives et liées à l'existence de gradients divers (Hypothèse uniciste).

Peut-être l'induction normale résulte-t-elle d'aillèurs, comme le pense WADDINGTON, de l'action de deux facteurs à l'évocateur primaire et des modulateurs (complexes et spécifiques à la fois) qui modifieraient l'action de l'évocateur en réalisant les diverses différences régionales. Le rôle d'évocateur primaire pourrait être réalisé ici par un acide nucléique existant sous forme conjuguée avec des protéines qui assumeraient le rôle de modulateurs (J. BRACHET).

Cette hypothèse séduisante, qui se rapproche du rôle conféré aux protéines dans l'ontogénèse par BARTH et GRAFF, est malheureusement encore peu accessible à l'analyse biochimique.

Nous pouvons de cet exposé retenir les idées fondamentales suivantes :

a) l'induction est provoquée par une substance chimique;

b) le territoire élaborant cette substance est le siège d'un métabolisme particulier à prépondérance glucidique;

c) les techniques cytochimiques et les dosages de pentoses ont permis d'établir que ce territoire est plus riche en nucléoprotéides que les territoires ventraux correspondants;

d) en ce qui concerne la nature propre de l'inducteur deux conceptions se sont fondamentalement opposées jusqu'à ce jour : celle de la stimulation non spécifique par un

acide (« Saure-Reiz » de FISCHER et son Ecole) et celle de stimulation spécifique par un stérol (WADDINGTON et NEEDHAM).

Il est difficile de décider entre elles tant qu'on n'aura pas identifié cette substance, démontré se présence réelle dans le toit de l'archenteron et constaté qu'elle stimule des structures spécifiques (BARTH).

Les efforts des chercheurs devront se concentrer avant tout sur l'organisateur vivant et la préparation d'extraits obtenus de manière à éviter toute altération des constituants les plus labiles de la lèvre blastoporale.

En ce qui concerne la multiplicité des agents inducteurs il faut se garder d'adopter une attitude pessimiste et de conclure à l'impossibilité de fournir une explication satisfaisante de leur action, quelles que puissent être ici les nombreuses causes d'erreur qui se présentent au cours des recherches.

Sans doute les inducteurs (artificiels et naturels) éveillent-ils dans l'épiblaste un métabolisme particulier dont une des manifestations est une synthèse de ribonucléoprotéides conduisant à la synthèse de protéines spécifiques.

Ainsi se percevrait un lien entre les stérols, les acides nucléiques et le métabolisme glucidique caractéristique de l'organisateur.

### BIOCHIMIE ET RÉGÉNÉRATION.

L'étude de la régénération révèle de fructueuses analogies avec l'embryogenèse.

Dans les deux cas on assiste à l'accumulation d'acide ribonucléique, indice d'une synthèse active de protéines.

Dans les deux cas on assiste à la disparition de ces acides au moment où la différenciation cytologique débute.

Dans les deux cas on constate l'existence d'un catabolisme glucidique intense au niveau des territoires actifs.

Synthèse de protéines, intervention des acides nucléiques et utilisation des sucres semblent donc des traits communs à toute morphogenèse.

CHAPITRE X

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PROBLÈMES POSÉS PAR L'EMBRYOLOGIE CHIMIQUE

*Faits acquis.* — L'Embryologie Chimique a fourni une contribution importante à l'étude des problèmes de la physiologie cellulaire.

1° Elle a permis notamment d'établir :

a) Que c'est le cytoplasme qui contient la plus forte proportion de ferments respiratoires et hydrolytiques (1).

b) Que la régénération implique une synthèse de protéines, celle-ci s'effectuant sous le contrôle des ribonucléoprotéides cytoplasmiques.

c) Que l'activité des ribonucléoprotéides cytoplasmiques, leur nombre et leur structure sont probablement régis par le noyau. Cette constatation explique le rôle nécessaire de celui-ci dans l'embryogénèse et la régénération.

d) Que les ferments respiratoires importants, dont la concentration peut déterminer le taux des oxydations, sont liés à des granules déplaçables par centrirugation.

e) Que les hydrolases sont, dans une très large proportion, disséminées dans l'hyaloplasme.

2°) L'Embryologie Chimique a également apporté une importante contribution :

a) Aux problèmes du déterminisme sexuel en établissant que les sexes sont déterminés par des substances chi-

(1) Cette constatation explique que l'énucléation retentisse relativement peu sur sa physiologie.

miques voisines les unes des autres, probablement en rapport avec l'activité des genes.

b) Au problème du mécanisme intime de la fécondation : rôle des sécrétions ovulaires et spermatiques (gamones et termones) ; nature protéique de ces substances ; modifications provoquées par l'activation (réaction membranogène avec modification des protéines corticales, réaction d'épuration par élimination de substances osmotiquement actives, dénaturation des protéines ovulaires avec synthèses de remaniement, libération de calcium, etc...).

c) Aux problèmes du chimisme de la division cellulaire : variations des groupes - SH, variations cycliques du métabolisme (catabolisme) glucidique, dénaturation réversible des protéines expliquant le fonctionnement de l'appareil achromatique et le phénomène de l'ascension polaire des chromosomes ; synthèse d'acide thymonucléique (probablement à partir de la fraction libre des ribonucléoprotéides cytoplasmiques) lors de la réduplication des chromosomes, déformations métaphasiques de ceux-ci, synthèse de ribonucléoprotéines préludant à la synthèse des protéines du cytoplasme.

d) Aux problèmes de la biochimie du développement : augmentation de la consommation d'oxygène, passage par un maximum et diminution consécutive, variations du quotient respiratoire, succession probable des sources d'énergie au cours de l'ontogenèse. Une partie seulement de l'énergie dégagée au cours des oxydations intervient d'ailleurs pour assurer la morphogenèse sans que celles-ci aient un pouvoir morphogénétique propre : selon la conception de J. Loeb la respiration se présente surtout comme une « variable indépendante » du développement. D'ailleurs si la morphogenèse exige une dépense d'énergie l'embryon peut couvrir celle-ci aussi bien par recours aux oxydations qu'à des réactions anaérobies.

Les études de Ries et ses collaborateurs ont d'autre part établi l'hétérogénéité des œufs en mosaïque et que des territoires essentiels au développement ont une constitution chimique différente des autres.

Le domaine des recherches ayant été ainsi déblayé l'analyse quantitative sera à même de s'attaquer enfin à la résolution des problèmes de la morphogenèse.

POINTS CONTROVERSÉS :

1°) *Les gradients :* L'embryologie expérimentale a très souvent fait appel à la notion de gradients dans le but de rendre compte des résultats observés au cours des recherches effectuées depuis une cinquantaine d'années.

Pour CHILD, HUXLEY et DE BEER ils auraient surtout un caractère métabolique. Pour BOVERI, SPEEMANN, DALCQ et PASTEELS ils impliqueraient plutôt la répartition de substances définies dans le cytoplasme ovulaire.

Cette dernière hypothèse (excepté le cas de l'Oursin où l'existence de gradients animal-végétatif antagonistes résulte cependant des recherches de RUNNSTROM et HORSTADIUS) semble la plus proche de la réalité.

Chez les Amphibiens le simple examen microscopique établit l'existence d'un gradient vitellin cependant que la cytochimie révèle un gradient animal-végétatif opposé qui ressort de la répartition des ribonucléoprotéides sulfhydrilées. A la gastrulation apparaît un nouveau gradient dorso-ventral auquel s'ajoute, à la neurula, un gradient céphalo-caudal. Les mêmes faits, quelque peu atténués, se retrouvent chez les autres Vertébrés, chez les Invertébrés l'existence de gradients de ribonucléoprotéines est toutefois moins nette.

*En conclusion :* De nombreux œufs présentent des gradients dans la répartition de certaines substances (notamment des ribonucléoprotéides) et ces gradients coïncident avec ceux que l'expérimentation faisait prévoir, leur maximum se trouvant toujours aux points où la morphogenèse est particulièrement active.

L'association de ferments respiratoires avec les ribonucléoprotéides explique la superposition partielle de ces gradients avec des gradients métaboliques (ainsi que le soutient CHILD) mais des variations qualitatives du métabolisme interférent (ce que CHILD n'admet pas) avec les variations quantitatives constatées par ailleurs.

2°) La nature de la substance inductrice :

Il semble hors de doute que l'organisateur exerce ses effets par l'intermédiaire d'une substance chimique. L'hypothèse de MORICARD et GOTHIE selon laquelle son action s'explique par des phénomènes de tension superficielle ne paraît pas soutenable.

La nature chimique de cette substance demeure inconnue.

On peut toutefois faire quelques hypothèses à son sujet. Selon WADDINGTON et NEEDHAM le fait de tuer l'épiblaste libérerait l'évocateur d'un complexe où il existerait sous forme masquée. Pour J. BRACHET c'est l'attaque des fragments tués par les cellules voisines qui libérerait des substances évocatrices non nécessairement identiques à celle qui agit dans l'organisateur vivant.

Le fait que l'organisateur « tué » ne suscite que des évocations sans individuation proprement dite pourrait s'expliquer en supposant que l'évocateur ne présente pas le « gradient axial » nécessaire à l'individuation ou que la spécificité régionale dépend de propriétés spatiales spécifiques (WADDINGTON). Pour J. BRACHET on pourrait formuler les hypothèses suivantes :

a) admettre comme point de départ que les nucléoprotéides participent à l'induction normale;

b) admettre que, au cours de l'invagination, ceux-ci seraient attaqués en donnant des nucléotides;

c) admettre enfin que ces derniers entreraient, pour une part, dans la synthèse de nouveaux ribonucléoprotéides.

Les mouvements de la gastrulation et la neurulation pourraient résulter de déformations consécutives de molécules protéiques (HARRISON). Il existe d'ailleurs une localisation corticale de molécules fibrillaires orientées (WADDINGTON) ; quant à l'invagination elle résulterait, selon HOLTFRETER, de ce que la tension superficielle de la couche ectodermique serait inférieure à celle des tissus sous-jacents.

3°) On entrevoit donc la possibilité que le métabolisme des sucres, celui des acides nucléiques et de leurs dérivés

et, enfin, les mouvements morphogénétiques (en rapport avec les déformations de molécules protéiques et des phénomènes de tension superficielle) soient couplés dans une certaine mesure.

Peut-être en serait-il déjà ainsi au moment de l'invagination de l'organisateur pendant la gastrulation.

Les travaux de J. BRACHET et CHANTRENNE ont d'autre part établi que la gastrulation et la neurulation s'accompagnent d'une forte synthèse d'acide adénosinetriphosphorique, ce dernier faisant défaut dans les territoires inactifs au point de vue morphogénétique. Ce fait suggère une intervention de ce composé, qui peut agir comme évocateur (FISCHER et WEHMEIER) dans les phénomènes d'induction.

Rappelons encore que l'absence d'individuation va de pair avec l'absence de gradient de l'acide nucléique et de ses dérivés.

Restent à expliquer les inductions par les agents ne contenant pas d'acides nucléiques, par exemple les acides concentrés, le bleu de méthylène, les stérols et les hydrocarbures cancerigènes.

On peut supposer :

a) qu'ils ont une action purement cytolytique sur les cellules avoisinantes ;

b) en ce qui concerne les colorants et les dérivés des stérols que leur absorption par les particules ribonucléoprotéiques modifie le pouvoir de synthèse de celles-ci.

Ce dernier point se rapproche des vues de GRAFFI selon lesquelles la fixation d'hydrocarbures cancérigènes conférerait aux particules ribonucléoprotéiques le pouvoir d'engendrer des tumeurs malignes en se transformant en virus.

Il est intéressant de noter ici certaines analogies entre l'organisateur et les néoplasmes :

1° richesse en ribonucléoprotéides (CASPERSSON et SANTESSON, MITCHELL) ;

2° métabolisme glucidique intense ;

3° action inhibitrice exercée, dans les deux cas, par le blocage des groupes - SH (BERENBLUM, CRABTREE, WADDINGTON).

Le phénomène de « contagion métabolique » signalé par DALCQ et PASTEELS qui rapproche certains aspects de la morphogenèse et de la multiplication des genes et des virus, s'en distingue, semble-t-il, par le fait qu'il existe ici une régulation qui découle probablement d'une organisation en gradients caractéristiques de l'embryon.

De ces rapprochements résultent :

a) l'idée que tout agent capable de mettre en route la multiplication des granules ribonucléotéiques serait évocateur;

b) l'idée que l'individuation résulterait du contrôle de cette multiplication par des gradients morphogénétiques définis;

c) celle, enfin, que de légers changements dans la constitution des granules, changements survenus petit à petit, conduiraient à l'élaboration de protéines nouvelles conditionnant l'apparition successive des divers organes.

On peut même aller plus loin et se demander avec HADDOW et DARLINGTON si les granules ribonucléoprotéiques ne seraient pas le support de l' « hérédité cytoplasmique » mise en évidence par IMAI et RHODES chez les Végétaux et SONNENBORN chez les Protistes. Ces granules auraient donc la valeur de véritables « plasmagènes », voisins des virus et des genes chromosomiques.

Dans le cas du sarcome de ROUS il semble bien en effet qu'on ne puisse distinguer les notions de plasmagènes mutants et de virus (HADDOW).

PERSPECTIVES D'AVENIR.

1°) *Signification biochimique des potentiels morphogénétiques :*

a) La tâche essentielle du futur sera de trouver un terrain commun entre l'embryologie expérimentale et l'embryologie chimique;

b) Quelques traits s'en dessinent déjà à l'heure actuelle : ainsi la réalité d'un gradient vitellin est-elle hors de doute chez les Amphibiens où l'expérimentation a sug-

géré l'importance morphogénétique des substances présentes dans la moitié végétative de l'œuf.

A ce gradient s'ajoute, chez les Vertébrés, un champ cortical (DALCQ et PASTEELS) qui semble constitué par un film de protéides unis par des chaînes lipidiques disposées perpendiculairement. D'autre part la richesse d'un territoire en acide ribonucléique constitue un véritable indice de son potentiel morphogénétique. L'identité de cet acide avec la substance CV de DALCQ et PASTEELS apparaît d'ailleurs comme très vraisemblable.

2°) *Nature des champs :*

a) La notion de champ, bien qu'elle se soit révélée très féconde en embryologie expérimentale (HARRISSON, HOLTFRETER, WEISS, DALCQ et PASTEELS, etc...) présente une signification profonde qui nous échappe encore.

b) Selon HARRISSON ces champs se distingueraient par l'architecture des protéines entrant dans leur composition, les changements chimiques qui se déroulent dans l'embryon entraînant des remaniements dans la configuration de celles-ci. Toutefois nos procédés d'investigation sont encore trop grossiers pour avoir permis la mise en évidence de ces structures.

3°) *Bases chimiques de l'organogénèse et de la différenciation histologique :*

a) La formation des organes et leur différenciation histologique doivent correspondre à des changements physiques et chimiques profonds, en particulier l'élaboration de protéines spécifiques doit jouer un rôle capital dans les phénomènes de chimiodifférenciation (HUXLEY).

b) L'organogénèse normale paraît marcher de pair avec une synthèse de ribonucléoprotéides, liée sans doute à l'élaboration de protéines spécifiques et se ralentissant lorsque la différenciation histologique est terminée.

c) La question de savoir si l'œuf contient initialement les protéines spécifiques des divers organes ou bien les élabore progressivement dans les territoires correspondants n'est que l'aspect nouveau que la vieille querelle entre pré-

formationnistes et épigénétistes prendra vraisemblablement dans l'avenir.

4°) *Genes, Morphogenèse et Biochimie :*

a) L'action des genes dans la régulation du développement embryonnaire semble actuellement incontestable. Il importe toutefois de ne pas négliger l'intervention des mouvements cellulaires et de l'organisation du cytoplasme ovulaire au profit d'une conception exclusive et unilatérale strictement génétique (HARRISSON).

b) Il est certain que l'action des genes dans le développement et leur mode d'intervention dans le métabolisme de l'embryon constituent un département important des recherches futures (travaux de BOELL, POULSON, etc...).

c) La manière dont ils contrôlent le développement s'éclaircira lorsque nous connaîtrons mieux la nature et les modalités de leur intervention dans des cas d'un abord plus accessible (travaux de SCOTT-MONCRIFF, GASPARI, BEADLE, EPHRUSSI, TATUM, BUTENANDT, WEIDEL, WEICHERT et DERJUGIN sur la pigmentation de l'œil d'Ephestia et la Cynurenine ; travaux de KUHN et MOEWUS sur la sexualité chez Chlamydomonas, etc...).

d) Quelque prometteurs que soient ces débuts il ne faut pas oublier que nous ne pouvons pas encore formuler d'hypothèses sur la manière dont les genes influencent la morphogenèse primaire.

Enfin toute la biochimie des hybrides lethaux reste d'ailleurs à faire.

## BIBLIOGRAPHIE

Les auteurs cités dans cette thèse se retrouveront dans les ouvrages fondamentaux suivants :


*Embryologie Chimique*

FAURÉ-FREMIET E. — La Cinétique du Développement. *Presses Universitaires de France, Paris,* 1935.

LINDAHL P.E. — Physiologisch-Chemische. Probleme der Embryonal-entwicklung. *Fortschr. der Zool.,* 3, 271-305, 1938 et 5, 187-359, 1941.

NEEDHAM J. — Chemical embryology, 3 vol. *Cambridge University Press,* 1931.

BRACHET J. — Embryologie Chimique. *Masson, Paris* 1944.

*Embryologie Expérimentale*

BRACHET A. — L'œuf et les facteurs de l'ontogenèse. *Doin, Paris,* 1931.

CAULLERY M. — Les progrès récents de l'embryologie expérimentale. *Flammarion, Paris,* 1939.

DALCQ A. — Les bases physiologiques de la fécondation et de la parthénogenèse. *Presses Universitaires de France, Paris,* 1928.

L'organisation de l'œuf des chordes. *Gauthier-Villars, Paris,* 1935.

From a causality in carly development. *Cambridge University Press,* 1934.

L'œuf et son dynamisme organisateur. *Albin Michel, Paris,* 1941.

HUXLEY J. et DE BEER R. — Elements of experimental embryology. *Cambridge University Press,* 1934.

SPEEMANN H. — Experimentale Beiträge zur einer Theorie der Entwicklung. *Spinger, Berlin,* 1936.

WEISS. — Principles of development. *Holt and Co, New-York,* 1939.

*Embryologie Descriptive*

BRACHET A. — Traité d'Embryologie des Vertébrés (*2me édit. revue par Dalcq et Gérard*), *Masson, Paris,* 1935.

DA COSTA C. — Eléments d'Embryologie. *Masson, Paris,* 1938.

DUBREUIL G. — Embryologie humaine. *Vigot, Paris,* 1941.

*Divers*

CAULLERY M. — Organisme et sexualité. *Doin, Paris,* 1941.

FLORKIN M. — Précis de Biochimie générale. *Desoer, Liège et Masson, Paris,* 1943.

GUYENOT M. — L'Hérédité. *Doin, Paris,* 1942.

POLONOWSKI M. et LESPAGNOL A. — Chimie organique biologique. *Masson, Paris,* 1941.

# TABLE DES MATIÈRES


| | | Pages |
|---|---|---|
| INTRODUCTION | ..... | 7 |
| TECHNIQUES DE L'EMBRYOLOGIE CHIMIQUE | ..... | 9 |
| CHAPITRE I. | — *Biochimie de la reproduction* .. | 13 |
| CHAPITRE II. | — *Biochimie de la gametogenèse*. | 17 |
| CHAPITRE III. | — *Biochimie de la fécondation* .. | 21 |
| CHAPITRE IV. | — *Biochimie de la division cellulaire* ..... | 25 |
| CHAPITRE V. | — *Embryologie chimique des Invertébrés (mosaïque et régulation)* ..... | 27 |
| CHAPITRE VI. | — *Croissance. - Différenciation. - Métabolisme* ..... | 31 |
| CHAPITRE VII. | — *Localisation et rôle physiologique des acides nucléiques* .... | 33 |
| CHAPITRE VIII. | — *Embryologie chimique des œufs de Batraciens* ..... | 39 |
| CHAPITRE IX. | — *Organisation. - Induction. - Biochimie* ..... | 42 |
| CHAPITRE X. | — *Conclusions générales et problèmes posés par l'Embryologie Chimique* ..... | 51 |
| BIBLIOGRAPHIE | ..... | 59 |

## QUESTIONS POSEES PAR LA FACULTE

1° — *Intoxication par les benzols.*

2° — *Tœnia echinococcus.*

3° — *Répartition des glucides intra-cellulaires.*

*Vu : Pour le Doyen, l'Assesseur :*
LEFEBVRE.

*Le Président du Jury :*
V. BRUSTIER.

*Vu et permis d'imprimer :*
Toulouse, le 21 Mars 1949.

*Le Recteur,*
*Président du Conseil de l'Université :*
DOTTIN.